

구아닌 산의 熱 分解에 關한 研究

李在興 · 高重煥 · 金洪執 · 裴鍾燾 · 柳洲鉉*

(第一 製糖 株式 會社 食品研究所, 延世 大學校 食品 工學科*)

(1979년 7월 3일 수리)

Decomposition of Guanosine-5'-Monophosphate by Heat Treatment

Jae Heung Lee, Jung Hwan Ko, Hong Jip Kim,
Jong Chan Bae and Ju Hyun Yu*

Cheil Sugar Co., Ltd., Food Research and Development Center, Seoul

Department of Food Engineering, Yonsei University,*

(Received July 3, 1979)

Abstract

The heat decomposition rate of guanosine-5'-monophosphate was investigated in pH range from 5.52 to 7.00, and 0.1 of the ionic strength. The result showed that the rate was a first-order reaction and the rate of guanosine-5'-monophosphate loss was maximum near pK_{a2} .

The loss of guanosine-5'-monophosphate was temperature dependent and followed to the Arrhenius equation in the temperature region from 93°C to 108°C.

The rate constant as function of temperature (93° to 108°C) and neutral pH(pK_{a2} , 6.0, to 7.0) was correlated by least-square fit of the experimental data;

$$K = 4.19 \times 10^{26} \exp [-1.3(pH + E/RT)]$$

序 論

구아닌 산 나트륨(5'-GMP · Na₂)은 이노신 산 나트륨(5'-IMP · Na₂)과 더불어 구루타민 산 나트륨에 소량 첨가하여 複合 調味料로 사용되는 核酸 關聯 物質로, 맛의 질과 인상 강도가 구루타민 산 나트륨과 다르다^(1,2). 그러나 이러한 핵산 물질의 산성 용액을 가열하면 핵산의 분해가 일어나 nucleoside인 구아노신과 이노신이 생기며 나아가서 각각 구아닌과 하이포산틴으로 변화되어 조미료의 역할을 할 수가 없게 된다⁽³⁾. 이러한 核酸 分解는 특히 용액의 pH가 낮아 질수록 분해 속도가 커지는 것으로 보고 되었으나⁽³⁻⁵⁾ 그 용액의 분해 속도가 pH 및 온도와 어떠한 관련성이 있는가에 대한 연구가 없었다. 본 연구는 5'-GMP 용액의 pH와 온도 변화에 따른 분

해 속도를 측정하였고 이로부터 5'-GMP 분해의 pH 및 온도 의존성에 대한 실험적인 관계 식을 구하여 그 결과를 보고하는 바이다.

材料 및 方法

1. 實驗 材料

본 실험에 사용한 5'-GMP는 日本 協和 醸酵의 시약이었다.

2. 水分 測定

5'-GMP의 수분 함량은 60 %로 상대 습도가 유지된 desiccator에 시료를 장시간 보관한 후 Karl-Fischer⁽⁶⁾ 수분 측정기를 사용하여 측정하였다.

3. pK_{a2} 의 測定

5'-GMP의 pK_{a2} 는 NaCl로 이온강도를 0.1로 조정된

5'-GMP의 0.01 M 용액을 60°C에서 0.01 N HCl로 적정하여 구하였다.

4. 5'-GMP의 熱處理 및 核酸 關聯 物質의 定量
pH를 5.52, 5.93, 6.33, 6.58, 6.75, 7.00으로 각각 조제한 인산 완충용액에 5'-GMP를 가하여 1.5 g/l 농도로 용해시킨 다음 NaCl을 첨가하여 이온 강도를 0.1로 하였다. 이들 각각의 용액을 살균된 앰플(직경 16 mm, 두께 1.0 mm, 길이 60 mm)에 각각 넣고 봉하여 일정 온도가 유지된 oil bath(±0.25°C)에 넣어 일정 시간 동안 가열한 후 시료를 채취하여 high pressure liquid chromatography (HPLC, Waters Associates Co.)를 행하여 정량 분석하였다⁽⁷⁾. HPLC의 column은 μ BONDAPAK C¹⁸이었고, carrier fluid는 0.01M NH₄H₂PO₄, 유속은 2 ml/min이었다.

結果 및 考察

1. 水分 및 pKa₂의 測定

Karl-Fischer 수분 측정기로 측정한 5'-GMP의 수분은 27.8 % (w/w)로 5'-GMP 분자당 약 8.5 분자의 수분을 함유하고 있었다. 5'-GMP의 pKa₂는 pH meter를 이용하여 0.01N HCl로 적정하면서 구한 적정 곡선으로부터 결정하였다. 3차례 실험의 평균치는 6.0으로 Bock⁽⁸⁾ 등의 6.1과 약간의 차이는 있으나 이는 온도 및 이온 강도의 차이에 따라 약간씩 변화하기 때문인 것으로 생각되어진다.

2. 反應 速度의 決定

보통 식품 조리시 음식의 pH는 거의 중성 용액이며, 염의 농도는 약 1% 미만이기 때문에 본 실험의 pH를 중성 근처인 범위로 택하였고 이온강도를 0.1로 했다. 실험 결과 5'-GMP의 열 분해 생성물은 중성 용액 근처에서는 대부분 구아노신이었고 미량의 구아닌이 존재하였다. 5'-GMP의 열분해는 1차 반응 속도식을 따르고 있는 것으로 보고되었다^(3,4).

$$\text{즉 } \frac{dC}{dt} = -KC \quad (1)$$

여기에서 C는 5'-GMP의 농도를 나타내며 K는 반응 속도 상수이다. Fig. 1은 열 처리 시간에 따른 5'-GMP의 잔존율을 나타낸 것이다. 이 결과를 보면 5'-GMP의 열분해 반응은 1차 반응임을 알 수 있다.

용액의 pH가 7.0에서 2시간 동안 가열하였을 때의 잔존율은 94%로, 조리 시간은 30분에 불과하므로 5'-GMP의 열에 의한 파괴는 크지 않으나 용액의 pH가 감소할수록 파괴가 점차 증가된다. 5'-IMP의 경우, 용액의 pH가 5'-IMP의 pKa₂와 같을 때 활성 복합체(activa-

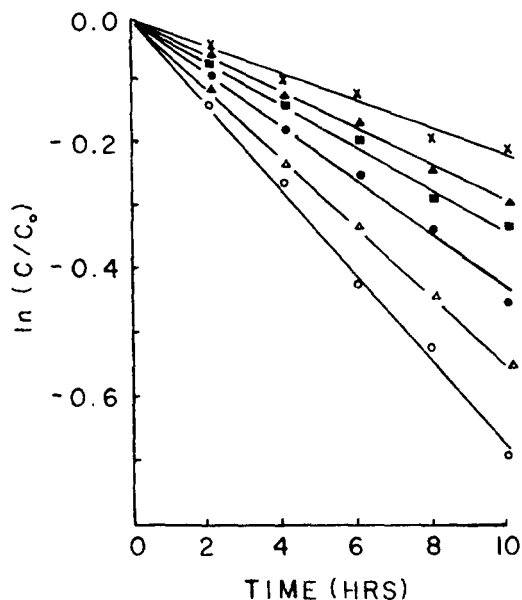


Fig. 1. First-order plots for 5'-GMP decomposition at 98°C (Δ: pH 5.52, ○: pH 5.93, ●: pH 6.33, ■: pH 6.58, ▲: pH 6.75, ×: pH 7.00)

ted complex)가 가장 많이 생겨서 반응 속도 상수 K가 가장 크게 나타났다⁽⁹⁾. Fig. 2는 ln K를 pH에 대하여 plotting한 것으로, 5'-GMP도 pKa₂ 근처에서 분해 속도가 크게 나타났으며, 이는 5'-IMP의 경우와 마찬가지로 pKa₂와 같을 때 활성 복합체가 가장 많이 존재하여 분해 속도가 가장 큼을 보여 주었다.

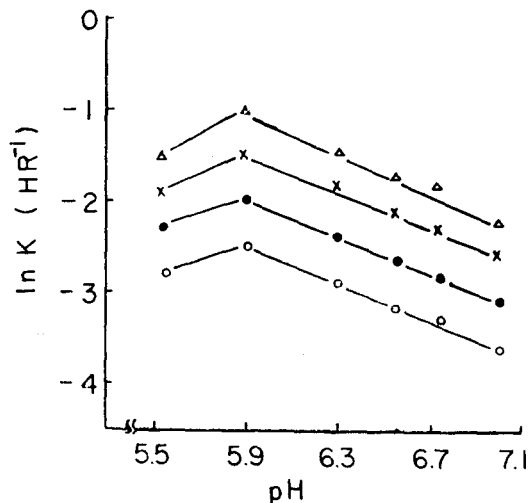


Fig. 2. Plots of the rate constant vs pH (○: 93°C, ●: 98°C, ×: 103°C, △: 108°C)

3. 온도 및 pH의 영향

5'-GMP 분해에 미치는 온도의 영향을 Arrhenius 식으로 표시할 수 있다⁽³⁾.

$K = K_0 \cdot \text{Exp}(-E/RT)$ (2)

여기에서 K는 반응 속도 상수, K₀는 frequency factor, E는 활성화 에너지, R은 기체 상수, T는 절대 온도이다. 일정 온도에서 반응 속도 상수 K는 K₀와 활성화 에너지 (E)의 함수이다⁽¹⁰⁾.

pH 5.52에서 7.00의 5'-GMP 용액에서 ln K를 절대 온도에 대하여 plotting한 결과 Fig. 3에서 보는바와 같이 직선으로 나타났다. 이 직선의 기울기를 비교하여 볼 때 활성화 에너지는 pH 변화에 대하여 크게 변화가 없었다..

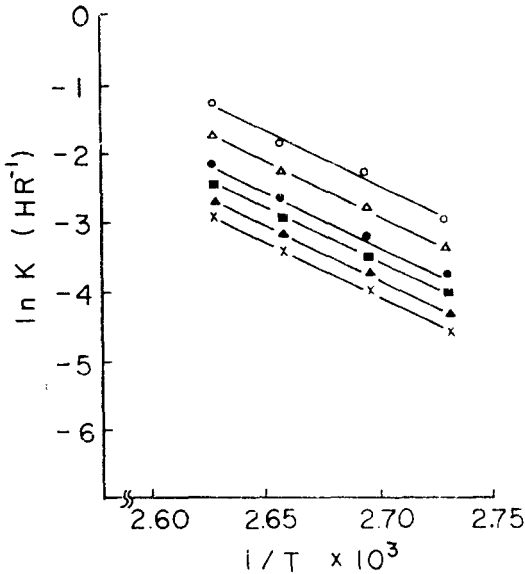


Fig. 3. Plots of the rate constant vs temperature (Δ : pH 5.52, ○ : pH 5.93, ● : pH 6.33, ■ : pH 6.58, ▲ : pH 6.75, × : pH 7.00)

Fig. 2에서 pH가 반응 속도 상수 K에 민감한 영향을 미치는 것으로 나타났다. (2)식로부터

$\ln K = \ln K_0 - E/RT$ (3)

가 얻어진다. 일정한 온도에서는 E/RT가 일정하므로 ln K는 일정하다. 한편 pH가 pKa₂보다 높은 중성 영역에서 ln K는 pH의 영향을 크게 받으므로 ln K₀가 pH와 1차적인 관계가 있는 것으로 생각되며 (Fig. 2) (4)식와 같은 관계가 성립된다.

$K_0 \propto \text{Exp}(-pH)$ (4)

(2)식과 (4)식으로부터 지수 법칙에 의하여 (5)식이 성립된다.

$K \propto \text{Exp}(-pH - E/RT)$ (5)

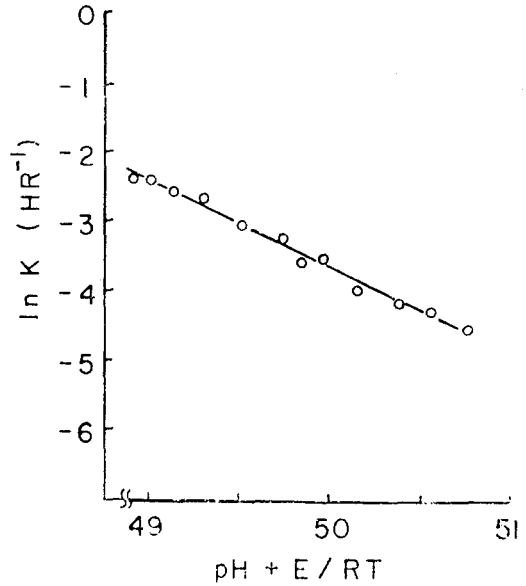


Fig. 4. Plot of the rate constant vs the function of temperature and neutral pH above pKa₂

Fig. 4는 ln K를 pH+E/RT에 대하여 plotting한 것으로 실험적인 결과가 1차적으로 잘 부합되었다. 이 직선의 기울기로 부터 5'-GMP 열 분해는 온도 및 pH의 함수로서 (6)식과 같이 표시할 수 있음을 알 수 있다.

$K = 4.19 \times 10^{26} \text{Exp}[-1.3(pH + E/RT)]$ (6)

(6)식은 5'-GMP의 pKa₂ 이상 중성 pH 영역에서의 열 분해 속도를 나타내는 관계식이며 pKa₂ 값과 먼 산성 영역이나 알칼리 영역에서는 Fujita⁽³⁾, Davidek⁽⁴⁾, Kuriyama⁽⁵⁾ 등이 산성 영역에서는 pH가 낮아 질수록, 알칼리 영역에서는 pH가 높아 질수록 분해 속도가 커지는 것으로 보고하였다.

要 約

5-GMP의 열 분해 반응을 pH 5.52에서 7.00의 범위에서 조사하였다. 그 반응 속도는 일차 반응으로 나타났으며, 용액의 pH가 pKa₂일 때 반응 속도가 가장 컸다.

5'-GMP의 분해 반응은 온도 의존성을 나타냈으며, 93°C에서 108°C 범위에서 Arrhenius식을 따르고 있었고, 반응 속도 상수는 pKa₂ 이상의 중성 용액 근처에서는 온도 및 pH의 함수로서 다음과 같이 표시되었다.

$K = 4.19 \times 10^{26} \text{Exp}[-1.3(pH + E/RT)]$

—◇—

본 연구를 수행함에 있어서 high pressure liquid chromatography 사용을 도와 주신 第一 製糖 食品 研

究所 文和植씨, 姜慶來씨에게 깊은 감사의 뜻을 표하는 바이다.

參 考 文 獻

(1) Ogata, K.: *Adv. Appl. Microbiol.*, **19**, 209, Academic Press, New York(1975)
 (2) Yamaguchi, S.: *J. Food Sci.*, **32**, 473 (1967)
 (3) Fujita, E., Kimura, H., Nakatani, H., Ishii, K. and Satani, E.: *榮養と食糧*, **18**, 98 (1965)
 (4) Davidek, J., Velišek, J. and Janiček, G.: *J.*

Food Sci., **37**, 789 (1972)
 (5) Kuriyama, C., Fushizaki, M. and Murata, K.: *榮養と食糧*, **17**, 337 (1965)
 (6) Mitchell, J.: *Anal. Chem.*, **23**, 1069 (1951)
 (7) Bennett, M. C.: *J. Agr. Food Chem.*, **25**, 219 (1977)
 (8) Bock, R. M. and Ling, N. S.: *Archiv. Biochim. Biophys.*, **62**, 253 (1956)
 (9) Lee, J. H.: *J. Food Sci.*, **44**, 946 (1979)
 (10) Davey, K. R., Lin, S. H. and Wood, D. G.: *A.I. Ch.E.*, **24**, 537 (1978)